

⑤

Int. Cl. 2:

C 07 D 499/44

⑯ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

Behördeneigentlich

⑪

# Offenlegungsschrift 20 65 879

⑫

Aktenzeichen: P 20 65 879.1

⑬

Anmeldetag: 24. 4. 70

⑭

Offenlegungstag: 26. 8. 76

⑳

Unionspriorität:

③② ③③ ③①

30. 4. 69 Japan 33867-69

⑤④

Bezeichnung:

Verfahren zur Herstellung von DL-6-Aminoacylamidopenicillansäuren

⑥②

Ausscheidung aus:

P 20 20 133.6

⑦①

Anmelder:

President of Osaka University, Osaka (Japan)

⑦④

Vertreter:

Berg, W.J., Dipl.-Chem. Dr.rer. nat.; Stapf, O., Dipl.-Ing.;  
Schwabe, H.-G., Dipl.-Ing.; Sandmair, K., Dipl.-Chem. Dr.jur. Dr.rer.nat.;  
Pat.-Anwälte, 8000 München

⑦②

Erfinder:

wird später genannt werden

5879 A1

DT 20 65 879 A1

DIPL.-ING. SCHWABE DR. DR. SANDMAIR

PATENTANWÄLTE

8 MÜNCHEN 86, POSTFACH 860245

2065879

Anwaltsakte: 26 726

8. APR. 1976

President of Osaka University, Osaka/Japan

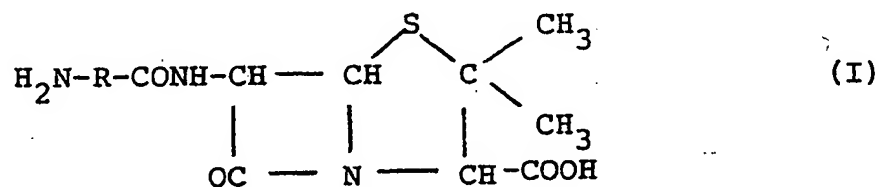
---

Verfahren zur Herstellung von DL-6-Aminoacyl-  
amidopenicillansäuren.

Ausscheidung aus Patentanmeldung P 20 20 133.6-44

---

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von  
DL-6-Aminoacylamidopenicillansäuren der Formel I



$$\begin{array}{c}
 \text{R}_4 \quad \text{R}_3 \\
 | \quad | \\
 \text{A}-\text{C}=\text{C} \\
 || \quad \diagup \\
 \text{O} \quad \text{N}-\text{R}-\text{COOH} \\
 \quad \quad | \\
 \quad \quad \text{H}
 \end{array}
 \quad (\text{III})$$
$$\begin{array}{c} \text{R}_4 \quad \text{R}_3 \\ | \quad | \\ \text{A}-\text{C}=\text{C} \\ || \quad | \\ \text{O} \quad \text{---} \end{array}$$

eine von einem  $\beta$ -Ketoncarbonsäurederi-

$$\begin{array}{c}
 \text{R}_4 \quad \text{R}_3 \\
 | \quad | \\
 \text{C} = \text{C} \\
 / \quad \backslash \\
 \text{A}-\text{C} \quad \text{N}-\text{R}-\text{CONH}-\text{CH}-\text{CH} \\
 || \quad \quad | \quad | \\
 \text{O} \quad \quad \text{H} \quad \text{OC} \quad \text{N} \\
 \quad \quad \quad \quad | \quad | \\
 \quad \quad \quad \quad \text{CH}-\text{COOH}
 \end{array}
 \quad \begin{array}{c}
 \quad \quad \quad \text{S} \\
 \quad \quad \quad / \quad \backslash \\
 \quad \quad \quad \text{C} \\
 \quad \quad \quad / \quad \backslash \\
 \quad \quad \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3
 \end{array}
 \quad \text{(II)}$$

und Hydrolysieren der dabei erhaltenen DL-6-Aminoacyl-  
amidopenicillansäure der Formel II oder eines ihrer Salze  
mit einer Säure bei höchstens Zimmertemperatur und einem

pH-Wert von höchstens 5,0.

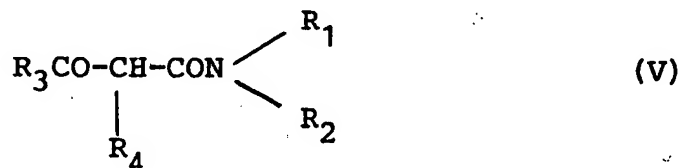
Die DL-6-Aminoacylamidopenicillansäuren der obigen allgemeinen Formel I oder deren Salze sind sowohl bedeutende antibakterielle Substanzen als auch therapeutische Mittel für Menschen und Tiere zur Behandlung von insbesondere durch grampositive und gramnegative Bakterien verursachten Infektionskrankheiten.

Für die Herstellung der 6-Aminoacylamidopenicillansäuren wurde bereits eine Anzahl von Verfahren vorgeschlagen, einschließlich denen der veröffentlichten Japanischen Patentanmeldungen 16 277/61, 4 064/65, 8 353/65 usw. Jedoch kann keinem dieser vorgeschlagenen Verfahren nachgesagt werden, daß es für industrielle Zwecke geeignet ist und dies wegen der geringen Ausbeute, der Schwierigkeit des Verfahrens oder der geringen Reinheit des Produkts. Zu den Verfahren, die als relativ vorteilhaft anzusehen sind, gehören die der veröffentlichten Japanischen Patentanmeldung 15 947/67 und 20 315/67, die das funktionelle Säurederivat einer  $\alpha$ -Aminosäure, deren Aminogruppe durch  $\beta$ -Diketon oder einen Ester der  $\beta$ -Ketosäure geschützt ist, verwenden. Diese Verfahren sind jedoch aus industriellen Gesichtspunkten nicht zufriedenstellend.

Aus Chemische Berichte, Band 98 (1965) Seite 789 bis 796 und der NL-PA 6 717 873 sind bereits Verfahren der eingangs definierten Gattung bekannt, bei denen N-geschützte Aminosäuren der obigen Formel III eingesetzt werden, in der A eine Phenylgruppe, eine Methylgruppe, eine Äthoxygruppe oder eine gegebenenfalls substituierte Phenylaminogruppe bedeutet.

Diese vorbekannten Verfahren vermögen nun hinsichtlich der Ausbeute und der Reinheit, in der die Produkte erhalten werden, nicht zu befriedigen, was der Wirtschaftlichkeit dieser Verfahren äußerst abträglich ist.

Es wurde nunmehr überraschenderweise gefunden, daß die DL-6-Aminoacylamidopenicillansäuren der obigen allgemeinen Formel I im Vergleich zu den herkömmlichen Verfahren sowohl in höherer Ausbeute als auch mit größerer Reinheit dadurch erhalten werden können, daß man die Aminogruppe der Aminosäure durch ein N,N'-disubstituiertes  $\beta$ -Ketosäureamid der folgenden allgemeinen Formel V



schützt und somit eine N-geschützte DL-Aminosäure der obigen allgemeinen Formel III einsetzt, in der A eine

Dialkylaminogruppe oder eine Morpholinogruppe bedeuten.

Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren der eingangs definierten Art, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man als Acylierungsmittel eine N-geschützte DL-Aminosäure der Formel III, in der  $R_3$  eine Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und  $R_4$  ein Wasserstoffatom oder eine niedere Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen ist oder  $R_3$  und  $R_4$  zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopentenyl- oder Cyclohexenylring bilden und A eine Aminogruppe der Formel



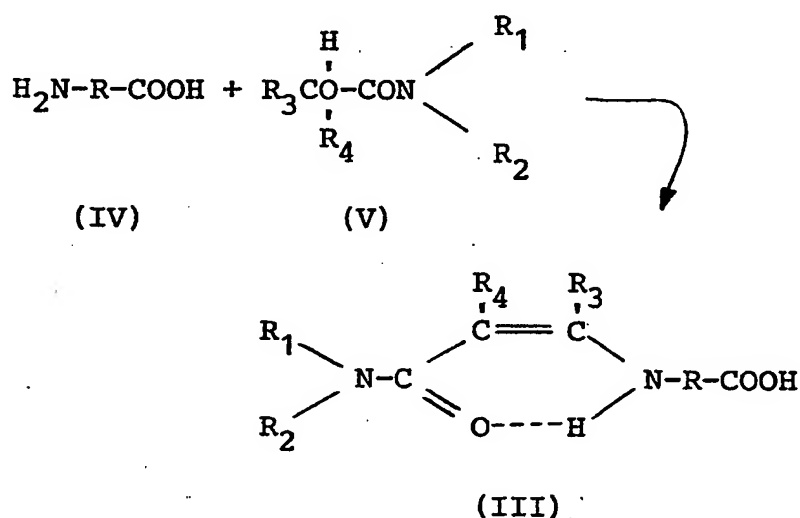
ist, in der  $R_1$  und  $R_2$  je eine Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten oder gemeinsam zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, und einem Sauerstoffatom einen Morpholinring bilden.

Unter der Bezeichnung "funktionelle Säurederivate", wie sie hier verwendet wird, fallen solche Derivate, in denen ein Teil der Carboxylgruppe durch andere Atome oder funktionelle Gruppen ersetzt wird.

Zu den oben erwähnten Salzen gehören solche mit anorganischen Säuren, mit organischen Säuren wie beispielsweise Alkylsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure oder Naphthylsulfonsäure, mit Metallen wie Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium oder Aluminium, mit Ammoniak und mit substituiertem Ammoniak wie Triäthylamin, N,N-Dimethylbenzylamin, N-Alkylmorpholinen, N-Alkylpiperidinen, Procain usw.

Während darüber hinaus N-Monoaryl-substituiertes Acetamid dem Fachmann als schützendes Mittel bekannt ist, hat das spezifische N,N-disubstituierte Säureamid der Formel (V), worin jeder der Reste  $R_1$  und  $R_2$  die oben angegebene Bedeutung hat, gegenüber dem herkömmlichen schützenden Mittel folgende Vorteile. Die geschützte DL-Aminosäure [Formel (III)] kann in hoher Ausbeute hergestellt werden und kann sehr einfach aufgrund fehlender Aufnahmefähigkeit von Feuchtigkeit und leichter Kristallisation gehandhabt werden und es werden höhere Ausbeuten des Kondensationsprodukts [Formel (II)] von 6-APS oder deren Salz mit einem funktionellen Säurederivat der N-geschützten DL-Aminosäure [Formel (III)] und eine höhere Ausbeute an DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure [Formel (I)] nach Hydrolyse des Kondensationsprodukts im Vergleich mit denen bekannter Verfahren erhalten, wobei die Vergleichsbasis 6-APS und die gleichen Reaktionsbedingungen ist.

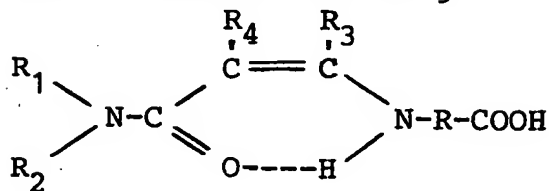
Die in der vorliegenden Erfindung verwendete geschützte Aminosäure (III) kann durch Kondensation einer Aminosäure der Formel (IV) oder deren Salz mit einem N,N-disubstituierten  $\beta$ -Ketosäureamid [Formel (V)] hergestellt werden. Die Aminosäure (IV) liegt dabei in racemischer Form vor.



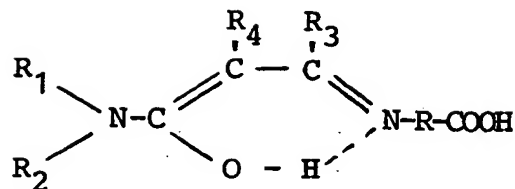
Weil angenommen wird, daß die N-geschützte DL-Aminosäure (III) in den tautomeren Formen (IIIa) und (IIIb) vorliegt, wird ebenso angenommen, daß die hiervon abstammende N-geschützte DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure (II) in ähnlichen tautomeren Formen vorliegt. Jedoch gelten aus Gründen der Vereinfachung und Kürze die Strukturformeln (III) und (II) sowohl für die tautomeren Formen der Aminosäure als auch der N-geschützten DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure und ihre Nomenklaturen entsprechen den gegebenen Strukturformeln. Die punktierte Linie in den Formeln (II), (III), (IIIa) und (IIIb) kennzeichnet



eine Wasserstoffbindung.



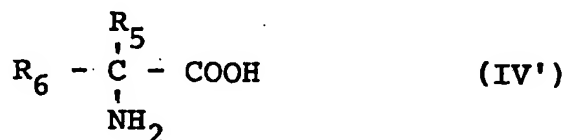
(IIIa)



(IIIb)

In der Formel (IV) einer Aminosäure stellt die Gruppierung  $\text{>N-R-COOH}$  einen DL-Aminosäurerest mit einer oder mehreren Aminogruppen in irgendeiner Stellung dar und die gesamten Aminogruppen werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren geschützt.

Wie die DL-Aminosäure der Formel (IV), so kann geeigneterweise eine Vielzahl solcher von aliphatischen, arylaliphatischen, aromatischen, cycloaliphatischen oder heterocyclischen Verbindungen herrührenden Säuren verwendet werden. Jedoch ist die bevorzugteste DL-Aminosäure eine solche, die eine Aminogruppe in  $\alpha$ -Stellung zu der Carboxylgruppe aufweist und der Formel



entspricht, worin  $\text{R}_5$  ein Wasserstoffatom, ein Methyl-, Methylthiomethylrest oder dergleichen ist,  $\text{R}_6$  ein Methyl-

thioäthyl-, Phenyl-, Nitrophenyl-, Aminophenyl-, Alkoxyphenyl-, Alkylphenyl-, Halogenphenyl-, Thienyl-, Methylthienyl-, Pyridyl-, Imidazol-, Thiazol-, Pyrazol-, Pyrazolon-, Isooxazol-, Isothiazol-, Pyrrol-, Furan-, Tetrahydropyrrol-, Tetrahydrothienyl-, Sydnone-, Cyclopentyl- oder Cyclohexylrest ist, wobei auch die Reste  $R_5$  und  $R_6$  gemeinsam einen Ring bilden können, wie Tetrahydrothienyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder dergleichen.

Als typische Beispiele des N,N-disubstituierten  $\beta$ -Ketosäureamids der Formel (V), das ein schützendes Mittel für die Aminogruppe dieser Erfindung ist, können N,N-Dimethylacetoacetamid, N,N-Diäthylacetoacetamid, N-Morpholinoacetoacetamid, 2-N,N-Dimethylcarbamylocyclopentanon, 2-N-Morpholinocarbamylocyclopentanon, 2-N,N-Dimethylcarbamylocyclohexanon und so weiter erwähnt werden. Besonders bevorzugte schützende Mittel sind N,N-Dimethylacetoacetamid, N,N-Diäthylacetoacetamid und N-Morpholinoacetoacetamid.

Nach der Erfindung wird DL-6-APS oder ihr Derivat mit einer geschützten DL-Aminosäure der Formel (III) oder einem funktionellen Säurederivat derselben umgesetzt. Als Derivat der DL-6-APS werden Salze mit Alkali, Erdalkali und anderen Metallen, substituierten Aminen oder

Silylderivate verwendet.

Zu typischen Beispielen des funktionellen Säurederivats der geschützten DL-Aminosäure der Formel (III) gehören gemischte Säurehydride, die gebildet sind durch Mischen der geschützten DL-Aminosäure mit beispielsweise Dimethylacetylhalogeniden, Trimethylacetylhalogeniden (Pivalylhalogeniden), Diphenylacetylhalogeniden, Diäthylacetylhalogeniden, Äthylchlorformiat, Isobutylchlorformiat oder Isopropylchlorformiat, ferner Zwischenprodukte, die gebildet sind durch die Reaktion der N-geschützten DL-Aminosäure mit Carbodiimiden wie N,N'-Carbodiimidazol, und reaktionsfähige Ester der geschützten Aminosäure wie p-Methoxyphenylester, p-Nitrophenylester, Propargylester, Carboxymethylthioester, N-Hydroxysuccinimidester oder Cyanomethylester.

Die Acylierung der 6-APS mit einem solchen funktionellen Säurederivat der N-geschützten DL-Aminosäure der Formel (III) wird vorzugsweise bei einer Temperatur unter 0°C in einer wässrigen Lösung, die ein Alkalimetallsalz der 6-APS oder ein tertiäres Aminsatz, wie Triäthylaminsatz der 6-APS, enthält oder in einem gemischten Lösungsmittel, das Wasser enthält oder in einem wasserfreien Lösungsmittel durchgeführt. Als organisches Lösungsmittel kann jedes inerte Lösungsmittel wie Aceton,

Acetonitril, Isobutylmethylketon, Methylenchlorid, Chloroform, Äthylendichlorid, Dimethylformamid, Dioxan, Tetrahydrofuran, Äthylenglycol-dimethyläther, Toluol oder Dimethylsulfoxid verwendet werden.

Bei der Durchführung der Hydrolyse des vorliegenden Verfahrens kann die durch Acylierung gebildete N-geschützte DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure entweder nach ihrer Isolierung aus dem Acylierungsgemisch oder während sie in dem Acylierungsgemisch verbleibt, hydrolysiert werden. Die Hydrolyse wird vorzugsweise in einer wässrigen Lösung oder in einem Lösungsmittel, das Wasser enthält, bei einer Temperatur unter Zimmertemperatur und bei einem pH-Wert vorzugsweise unter 5 durchgeführt, wobei sie durch die Zugabe einer geringen Menge verdünnter Mineralsäure oder einer wässrigen Lösung einer starken organischen Säure, wie einer organischen Sulfonsäure, Phosphonsäure, phosphonischen Säure, Ameisensäure oder einer Halogen-enthaltenden aliphatischen Säure bewirkt wird.

Nach Beendigung der Hydrolyse kann die sich ergebende DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure (I) oder ihr Salz in der üblichen Weise gereinigt werden, wobei man sie aus dem hydrolysierten Gemisch mit einem Lösungsmittel, wie beispielsweise Isobutylmethylketon, Essigsäureester,

Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff oder Methylenchlorid, das das freigesetzte schützende Mittel nicht lösen kann, extrahiert. Sie kann auch durch Auskristallisieren des hydrolysierten Gemisches mittels Einstellen des pH-Werts des Gemisches gereinigt werden.

Das Verfahren der vorliegenden Erfindung hat sich besonders zweckmäßig erwiesen, wenn es zur Herstellung von Aminobenzylpenicillin, 6-(1'-Aminocyclohexylcarboamido)-penicillansäure und dergleichen verwendet wird.

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

#### Bezugsbeispiel 1

a) Herstellung des Natriumsalzes von N-(1-N'-Morpholino-carbamypropen-2-yl)- $\alpha$ -aminophenylelessigsäure.

5,0 Millimol D-Phenylglycin werden in einer wässrigen Lösung, die 5,0 Millimol Natriumhydroxid enthält, gelöst und die Lösung wird durch Verdampfen unter reduziertem Druck konzentriert und dann zur Trockne gebracht. Das getrocknete Produkt wird in 5 bis 10 ml Methanol oder Äthanol durch Erwärmen gelöst und zu 5,0 bis 5,5 Millimol N-Morpholinoacetoacetamid zugegeben. Das sich ergebende Gemisch wird unter 30 Minuten langem Erhitzen auf dem Wasserbad behandelt, dann wird der Reaktionspartner nach Kühlen filtriert oder unter reduziertem Druck

zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird über Nacht unter Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure oder Phosphorpentoxid getrocknet und aus Methanol oder Äthanol umkristallisiert, wodurch man das Natriumsalz von N-(1-N'-Morpholino-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -aminophenyl-essigsäure erhält; Schmelzpunkt 248°C (Zerfall); Ausbeute 97%.

b) Das Verfahren des Bezugsbeispiels 1a) wird wiederholt, ausgenommen daß anstelle von N-Morpholinoacetamid N,N-Dimethylacetoacetamid verwendet wird, wodurch man das Natriumsalz von N-(1-N',N'-Dimethyl-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -aminophenylelessigsäure erhält; Schmelzpunkt 258°C (Zerfall); Ausbeute 97%.

c) In einer ähnlichen Weise wie in den vorausgehenden Beispielen werden unter Verwendung von D-Phenylglycin und Kaliumhydroxid in äquimolarem Verhältnis die nachfolgenden Verbindungen erhalten:

Kaliumsalz von N-(1-N'-Morpholino-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino-2-phenylelessigsäure; Schmelzpunkt 214 bis 218°C (Zerfall); Ausbeute 93%.

Kaliumsalz von N-(1-N',N'-Diäthylcarbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino-2-phenylelessigsäure; Schmelzpunkt 213 bis 216°C (Zerfall); Ausbeute 87%.

Kaliumsalz von N-(1-N',N'-Dimethyl-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino-2-phenylelessigsäure; Schmelzpunkt 212 bis 213°C (Zerfall); Ausbeute 92%.

#### Beispiel 1

Herstellung von Aminobenzylpenicillin.

5 Millimol Pivalylchlorid werden in 20 ml trockenem Aceton oder trockenem Tetrahydrofuran gelöst und die Lösung bei einer Temperatur unter -10°C gekühlt. Der gekühlten Lösung wird ein Tropfen N,N-Dimethylbenzylamin oder N-Methylmorpholin unter Rühren zugegeben, dann werden weiterhin schnell zugegeben 5 Millimol trockenes feines Pulver von Natrium- oder Kaliumsalz von N-(1-N'-Morpholinocarbamyl-propen-2-yl)-D- $\alpha$ -aminophenylelessigsäure, die nach dem Bezugsbeispiel 1a) oder c) erhalten wurde, und das Gemisch wird 30 Minuten bei der gleichen Temperatur gerührt.

Andererseits werden 5 Millimol 6-APS in 15 ml eines 1:1 (Volum) Gemisches von Aceton und Wasser, das 5,5 bis 6 Millimol Triäthylamin enthält, oder in 15 ml wasserfreiem Methylenchlorid, das 11 Millimol Triäthylamin enthält, gelöst und die Lösung wird auf eine Temperatur unter -10°C gekühlt. Das wie oben hergestellte gemischte Säureanhydrid wird der gekühlten Lösung zugegeben, während sie heftig gerührt und bei einer Temperatur unter 0°C gehalten wird.

Nachdem man ungefähr eine weitere Stunde bei einer Temperatur unter 0°C gerührt hat, wird das Gemisch zusätzliche 2 bis 3 Stunden bei 2°C bis 5°C gerührt. Das organische Lösungsmittel wird mittels Verdampfen unter reduziertem Druck aus dem Reaktionsgemisch, das Wasser enthält, ohne vorausgehendes Filtrieren oder aus dem filtrierten Reaktionsgemisch in dem Fall, daß ein wasserfreies organisches Lösungsmittel verwendet wird, entfernt. Dem konzentrierten Reaktionsgemisch werden ungefähr 10 ml Methylisobutylketon oder Chloroform zugegeben und es wird kräftig weitere 30 Minuten gerührt, während 1 bis 5 N Salzsäure zum Beibehalten des pH-Werts bei 2 zugegeben werden. Dann wird die organische Schicht entfernt und der wässrigen Schicht werden Natriumcarbonat oder Triäthylamin nach und nach zugegeben, um den pH-Wert auf 4,5 bis 4,8 einzustellen und sie wird über Nacht bei unter 0°C gehalten. Die zugefüllten Kristalle werden isoliert und in der üblichen Weise gereinigt, wodurch man das vorgesehene Produkt mit einer Ausbeute von 60% erhält. Die minimale inhibierende Konzentration gegen *Escherichia coli* ist 6,3  $\gamma$ /ml. Reinheit: 48% (nach dem Hydroxylaminverfahren).

#### Bezugsbeispiel 2

Herstellung des Natriumsalzes von N-(2-N'-Morpholinocarbamylcyclopent-1-yl)- $\alpha$ -aminophenyllessigsäure.



2-Äthoxycarbonylcyclopentanon und Morpholin werden in einer Äthanollösung durch Erhitzen zum Umsetzen veranlaßt, wodurch man 2-N-Morpholinocarbamylcyclopentanon mit einem Siedepunkt von 190°C bis 194°C/4mmHg erhält, das weiter mit Natriumsalz von D-Phenylglycin in der ähnlichen Weise umgesetzt wird, wie es im Bezugsbeispiel 1a beschrieben wurde, wodurch man das in der Überschrift bezeichnete Kondensat erhält; Schmelzpunkt 233°C bis 236°C (Zerfall); Ausbeute 83%.

### Beispiel 2

Herstellung von Aminobenzylpenicillin.

Das im Bezugsbeispiel 2 erhaltene Natriumsalz von N-(2-N-Morpholinocarbamylcyclopent-1-yl)- $\alpha$ -aminophenyl-essigsäure wird mit 6-APS in der ähnlichen Weise, wie in Beispiel 1 beschrieben, umgesetzt und das Reaktionsprodukt wird unter Bildung von Aminobenzylpenicillin mit 54%iger Ausbeute hydrolysiert, wobei man eine Reinheit von 67% erhält.

### Bezugsbeispiel 3

Herstellung des Natriumsalzes von N-(1-N'-Morpholino-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino-2'-thienylessigsäure.

Das Natriumsalz von DL- $\alpha$ -Amino-2-thienylessigsäure [Chemical Abstract, 51, 4944 (1957)] wird mit N-Morpholino-acetoacetamid in der im Bezugsbeispiel 1a) beschriebenen

Weise umgesetzt, wodurch man die in der Überschrift bezeichnete Verbindung erhält; Schmelzpunkt 154°C bis 160°C (Zerfall); Ausbeute 95%.

### Beispiel 3

Herstellung von DL- $\alpha$ -Amino-2'-thienylmethylpenicillin.

5 Millimol Isobutylchlorformiat werden in 15 ml wasserfreiem Acetonitril, das einen Tropfen N-Methylmorpholin enthält, gelöst und die Lösung wird auf eine Temperatur unter -10°C gekühlt. Zu der gekühlten Lösung werden

5 Millimol Natriumsalz von N-(1-N'-Morpholinopropen-2-yl)- $\alpha$ -amino-2'-thienylelessigsäure, die nach dem Bezugsbeispiel 3 erhalten wurde, zugegeben und das Gemisch wird bei der gleichen Temperatur 20 Minuten gerührt.

5 Millimol 6-APS werden in 5 ml Wasser, das 5,5 Millimol Tritäthylamin enthält, gelöst und mit 5 ml Aceton verdünnt. Die Lösung wird auf -8°C gekühlt, den oben hergestellten gemischten Säureanhydrid zugegeben, während kräftig gerührt und die Temperatur unter 0°C gehalten wird.

Nachdem man ungefähr eine halbe Stunde gerührt hat, wird das Gemisch bei 2° bis 5°C weitere 3 Stunden gerührt und dann von dem organischen Lösungsmittel durch Verdampfen unter reduziertem Druck befreit. Der sich ergebenden konzentrierten wässrigen Lösung werden 20 ml Isobutylmethyleketon zugegeben und es wird dann weiter heftig gerührt, während man 30%ige Salpetersäure zugibt,

um den pH-Wert auf ungefähr 2,5 zu halten. Dann wird die wässrige Schicht aus der organischen Schicht abgetrennt, der pH-Wert auf 5 durch Zugabe von Triäthylamin eingestellt und gefriergetrocknet. Das erhaltene nicht gereinigte  $\alpha$ -Amino-2'-thienylmethylpenicillin weist eine Minimalinhibierungskonzentration von 25  $\mu$ /ml gegen *Escherichia coli* auf.

#### Bezugsbeispiel 4

Herstellung des Natriumsalzes von N-(1-N'-Morpholino-carbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino- $\gamma$ -methylthiobuttersäure.

Natriumsalz von DL-Methionin und N-Morpholinoacetoacetamid werden wie im Bezugsbeispiel 1a) umgesetzt, wodurch man die in der Überschrift bezeichnete Verbindung erhält; Schmelzpunkt 98°C bis 102°C; Ausbeute 76%.

#### Beispiel 4

Herstellung von 6-( $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -methylthiobutyrylamido)-penicillinsäure.

Nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren wird 6-APS mit dem Natriumsalz von N-(1-N'-Morpholinocarbamylpropen-2-yl)- $\alpha$ -amino- $\gamma$ -methylthiobuttersäure, das wie im Bezugsbeispiel 4 angegeben, erhalten wurde, umgesetzt und das Reaktionsprodukt wird unter Bildung der in der Überschrift bezeichneten Verbindung hydrolysiert; Ausbeute 50%, minimale inhibitorische Konzentration 25  $\mu$ /ml gegen *Escherichia coli*.

Bezugsbeispiel 5

Herstellung des Natriumsalzes von N-(1-N',N'-Dimethyl-carbamylpropen-2-yl)-1-aminocyclohexylcarbonsäure.

Nach dem im Bezugsbeispiel 1a) beschriebenen Verfahren wird das Natriumsalz von 1-Aminocyclohexylcarbonsäure [Chemische Berichte, 19, 1922 (1906)] mit N,N-Dimethyl-acetoacetamid umgesetzt, wodurch man das in der Überschrift bezeichnete Produkt erhält; Schmelzpunkt 242°C bis 245°C (Zerfall); Ausbeute 94%.

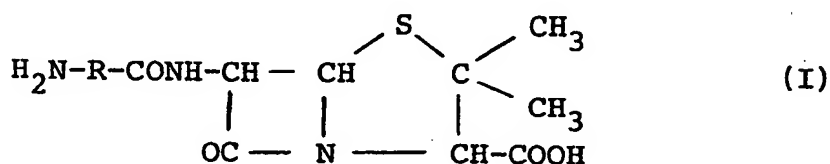
Beispiel 5

Herstellung der 6-(1-Aminocyclohexylcarboamido)-penicillansäure.

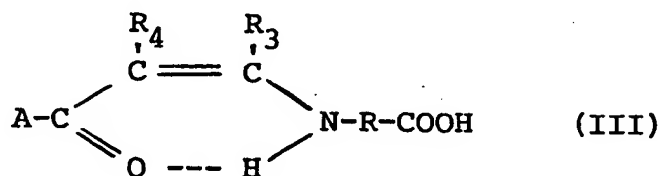
Nach dem im Beispiel 1 beschriebenen Verfahren wird 6-APS mit dem Kondensationsprodukt von Bezugsbeispiel 5 umgesetzt und das Reaktionsprodukt wird unter Bildung der in der Überschrift bezeichneten Verbindung hydrolysiert; Ausbeute 43%, minimale inhibitorische Konzentration 50  $\mu$ /ml gegen Escherichia coli.

P a t e n t a n s p r ü c h e

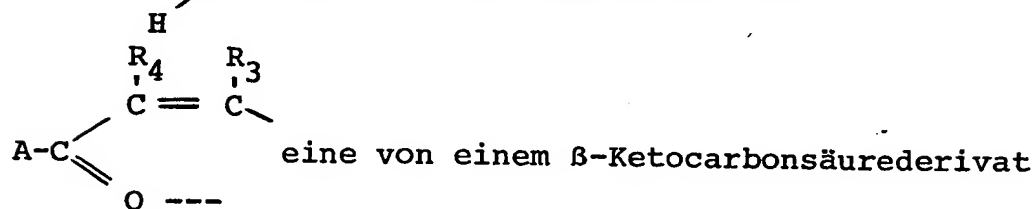
1. Verfahren zur Herstellung von DL-6-Aminoacylamido-  
penicillansäure der Formel



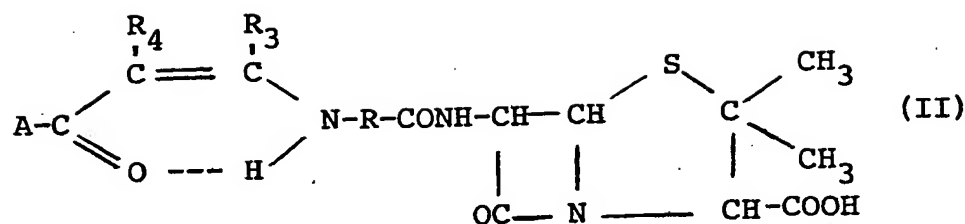
in der  $\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{CO}-$  ein Aminosäurerest ist, oder deren  
Salzen durch Acylieren von 6-Aminopenicillansäure  
(6-APS) oder einem Salz der 6-APS mit einer  
N-geschützten DL-Aminosäure der Formel



in der  $\text{N}-\text{R}-\text{COOH}$  ein Aminosäurerest und



abgeleitete Schutzgruppe ist, oder einem funktionellen  
Säurederivat einer N-geschützten DL-Aminosäure der  
Formel III in Gegenwart eines wasserfreien inerten  
Lösungsmittels bei einer Temperatur im Bereich von  
 $0^\circ\text{C}$  bis  $-30^\circ\text{C}$  zu einer N-geschützten DL-6-Aminoacyl-  
amidopenicillansäure der Formel

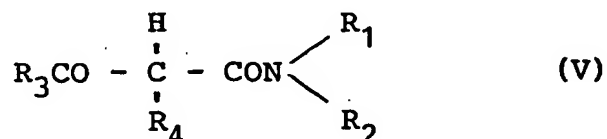


und Hydrolysieren der dabei erhaltenen DL-6-Aminoacylamidopenicillansäure der Formel II oder eines ihrer Salze mit einer Säure bei höchstens Zimmertemperatur und einem pH-Wert von höchstens 5,0, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß man als Acylierungsmittel eine N-geschützte DL-Aminosäure der Formel III, in der  $\text{R}_3$  eine Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und  $\text{R}_4$  ein Wasserstoffatom oder eine niedere Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen ist oder  $\text{R}_3$  und  $\text{R}_4$  zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopentenyl- oder Cyclohexenylring bilden und A eine Aminogruppe der Formel



ist, in der  $\text{R}_1$  und  $\text{R}_2$  je eine Alkylgruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten oder gemeinsam zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, und einem Sauerstoffatom einen Morpholinring bilden.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t, daß die N-geschützte  
DL-Aminosäure der Formel (III) dadurch hergestellt  
wird, daß man eine DL-Aminosäure oder ein Salz der-  
selben mit einem N,N-Di-substituierten  $\beta$ -Ketosäure-  
amid der Formel (V)

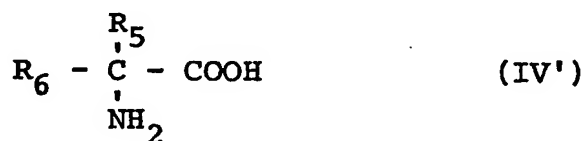


worin die Reste  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $\text{R}_3$  und  $\text{R}_4$  die in Anspruch 1  
gebene Bedeutung haben, in Gegenwart eines Lösungs-  
mittels umgesetzt.

3. Verfahren gemäß Anspruch 2, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t, daß das N,N-disubstituierte  
 $\beta$ -Ketosäureamid der Formel (V) ein N,N-Dimethylaceto-  
acetamid, N,N-Diäthylacetoacetamid und/oder  
N-Morpholinoacetoacetamid ist.
4. Verfahren gemäß Anspruch 1, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t, daß das funktionelle Säure-  
derivat der N-geschützten DL-Aminosäure der  
Formel (III) in Form eines gemischten Säureanhydrids  
verwendet wird, wobei dieses in der Weise hergestellt  
wird, daß man eine N-geschützte DL-Aminosäure der  
Formel (III) oder ein Salz derselben mit einem di- oder

trisubstituierten Essigsäurehalogenid oder einem Alkylchlorformiat in Gegenwart eines wasserfreien inerten Lösungsmittels in Gegenwart eines N-Methyl-tertiären Amins umgesetzt.

5. Verfahren gemäß Anspruch 2, d a d u r c h g e - k e n n z e i c h n e t, daß man als DL-Aminosäure eine DL- $\alpha$ -Aminosäure der Formel (IV')



verwendet, worin  $R_5$  ein Wasserstoffatom, ein Methyl-, Methylthiomethylrest oder dergleichen ist,  $R_6$  ein Methylthioäthyl-, Phenyl-, Nitrophenyl-, Aminophenyl-, Alkoxyphenyl-, Alkylphenyl-, Halogenphenyl-, Thienyl-, Methylthienyl-, Pyridyl-, Imidazol-, Thiazol-, Pyrazol-, Pyrazolon-, Isoxazol-, Isothiazol-, Pyrrol-, Furan-, Tetrahydropyrrol-, Tetrahydrothienyl-, Sydnone-, Cyclopentyl- oder Cyclohexylrest ist, wobei auch  $R_5$  und  $R_6$  gemeinsam einen Ring wie Tetrahydrothienyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder dergleichen bilden können.